

## Proposition de stage M2 2022-23

**Nom du responsable de stage :** V. Gervais (CNRS, HDR) ; M. Babot (UPSaclay)

**Ecole Doctorale de Rattachement :** ITFA (Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué), ED569

**Nom du Laboratoire :** I2BC, Equipe IMAPP

**Directeur :** S. Bressanelli

**Adresse complète :** CEA Centre Saclay JOLIOT / SB2SM / Bât 532

**Site web:** <https://www.i2bc.paris-saclay.fr/equipe-interactions-and-assembly-mechanisms-of-proteins-and-peptides/>

### Titre du stage

- Structure de complexes protéiques du SARS-Coronavirus-2 impliqués dans le remodelage membranaire

### Résumé du projet:

La pandémie de COVID-19, provoquée par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2), est une crise sanitaire mondiale sans précédent. Face aux capacités de transmission du virus et au taux de recombinaison et de mutation élevés, Il est urgent de proposer des thérapies efficaces et le ciblage des protéines qui jouent un rôle essentiel dans le cycle de vie du virus reste une approche privilégiée.

Le SARS-Cov-2 est un virus à ARN simple brin de polarité positive (virus à ARN+). Suite à l'entrée du virus dans la cellule, une modification de membranes intracellulaires de l'hôte entraîne la formation de structures spécialisées (organelle de réplication) permettant une réplication virale efficace. En particulier, dans le cas du SARS-CoV-2 le remodelage membranaire conduit à la formation des vésicules à double membrane (DMVs) reliées au réticulum endoplasmique.

Cette stratégie de réarrangement membranaire commune aux virus à ARN+ est une excellente cible pour développer des antiviraux. Nous nous intéressons à trois protéines virales non-structurales qui sont impliquées dans le réarrangement membranaire.

- Nous utilisons un système de traduction acellulaire (système cell-free) avec des germes de blé pour exprimer les protéines d'intérêt à domaines transmembranaires, soit de manière isolée soit en co-expression et en présence de détergent.

- Après optimisation des protocoles de purification, les complexes formés par ces protéines sont étudiés par des approches structurales et biophysiques. La qualité des échantillons est analysée par microscopie électronique à transmission (TEM - coloration négative) avant d'envisager l'étude structurale par cryo-microscopie électronique. Une stratégie de reconstitution en nanodisques nous a permis d'obtenir des résultats prometteurs.

- Le stage visera à optimiser les conditions de reconstitution en nanodisques pour chacune des protéines seules et/ou en complexe.

### **Références éventuelles de l'équipe sur le sujet**

**Habersetzer J, Debbah M, Fogeron ML, Bockmann A, Bressanelli S, Ficulaine S. (2020). *In vitro* translation of virally-encoded replication polyproteins to recapitulate polyprotein maturation processes. **Protein Expr Purif** 175:105694.**